

# ELI.H.A *Schistosoma*

## Serodiagnose van bilharziasis door indirecte hemagglutinatie

120 testen  
(Ref. 66600)



8000120-DU-2018-10

### 1 - DOEL

ELI.H.A *Schistosoma* maakt de kwantitatieve bepaling, door indirecte hemagglutinatie, mogelijk van serumantilichamen van bilharziosepatiënten bij *Schistosoma mansoni* (lokalisatie in de darmen), en bij *Schistosoma haematobium* (lokalisatie in de urine).

Met de kit kunnen 120 testen of 20 reacties van 6 verdunningen worden uitgevoerd.

### 2 - INLEIDING

Bilharziose, of schistosomiasis, is een groep parasitaire ziekten veroorzaakt door niet-gesegmenteerde platwormen van het geslacht *Schistosoma*.

Volwassen wormen induceren de progressieve verschijning van immuniteit. De eitjes zijn de ziekteverwekker van de ziekte. De ziekte komt voor in drie opeenvolgende fasen: besmetting - invasie - toestand.

De diagnose van bilharziasis kan door de opsporing van eitjes worden bevestigd, maar die kunnen niet vóór de "toestand"-fase worden ontdekt. De parasitaire immunologische diagnose is daarom essentieel aan het begin van de ziekte.

### 3 - PRINCIPE

ELI.H.A *Schistosoma* is gebaseerd op het principe van indirecte hemagglutinatie. De gesensibiliseerde rode bloedcellen bestaan uit rode bloedcellen van schapen bedekt met een antigeen *Schistosoma mansoni*. De aanwezigheid van specifieke serumantilichamen zorgt ervoor dat gesensibiliseerde rode bloedcellen samenklonteren, wat resulteert in een rood/bruine sluiër die de cupula bedekt. Bij gebrek aan specifieke antilichamen bezinken deze rode bloedcellen op de bodem van de cupula in de vorm van een ring. De niet-gesensibiliseerde rode bloedcellen zorgen voor de specificiteit van de reactie en maken de eliminatie mogelijk van de interferenties door natuurlijke antischaapagglutinenen (Forssmans hetero-antilichamen, antilichamen van infectieuze mononucleose, etc.).

De reactie vindt plaats in een U-vormige microtiterplaat.

De hantering is snel en eenvoudig. Resultaten worden verkregen in 2 uur.

### 4 - REAGENTIA EN MATERIAAL

Beschrijving	Aantal
<b>R1</b> : flacon van 2,4 ml met gesensibiliseerde rode bloedcellen	1
<b>R2</b> : flacon van 1 ml met niet-gesensibiliseerde rode bloedcellen	1
<b>BUF</b> : flacon van 55 ml fosfaatbuffer pH 7,2	1
<b>R3</b> : flacon van 2 ml adsorbens	1
<b>CONTROL +</b> : flacon van 0,2 ml van getitreerde positieve controle	1
<b>CONTROL -</b> : flacon van 0,2 ml van negatieve controle.	1
<b>MICROPLATE</b> : U-vormige microtiterplaat	2
<b>DROPPER</b> : speciale druppelaar	2

### 5 - VOORZORGEN BIJ GEBRUIK

- Reagentia zijn alleen bedoeld voor *in-vitro*-diagnose en dienen door geautoriseerd personeel te worden gehanteerd. De testen zijn voor eenmalig gebruik.
- Alle reagentia, behalve het reagens **BUF**, bevatten stoffen van dierlijke oorsprong en dienen voorzichtig te worden gehanteerd.
- De monsternemingen zijn potentieel besmettelijk. Ze moeten worden gehanteerd met de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen en met inachtneming van de in het land van gebruik geldende hygiënevoorschriften.
- **CONTROL**-flacons bevatten natriumazide (concentratie < 0,1%).
- Gebruik reagentia niet langer dan de vervaldatum.
- Gebruik geen reagentia uit verschillende batches.
- Wacht tot het serum en de reagentia op kamertemperatuur komen.
- Schud de reagentia **R1** en **R2** voorzichtig vóór gebruik.
- Bij het toedienen van reagentia **R1** en **R2** moet ervoor worden gezorgd dat de druppelaar perfect verticaal staat. Controleer of er geen luchtbelletjes in de druppels zitten, zodat de geleverde volumes constant zijn.

### 6 - VERZAMELING EN VERWERKING VAN MONSTERS

Gebruik verse serums of serums die bij - 20 °C bewaard worden en die geen troebele hemolyse of verontreiniging vertonen.

Vorkom herhaaldelijk invriezen en ontdoien.

Het serum nooit decomplementeren.

### 7 - OPSLAG EN BEREIDING VAN REAGENTIA

De reagentia zijn klaar voor gebruik.

Alle reagentia die bij 2-8 °C worden bewaard, zijn stabiel tot de op de verpakking vermelde uiterste gebruiksdatum. Zij mogen niet worden bevoren.

### 8 - BENODIGD, MAAR NIET MEEGELEVERD MATERIAAL

- Automatische pipet(ten) met een aan de te meten hoeveelheid aangepast pipetteringsvolume;
- Containers voor verontreinigd afvalmateriaal;
- een centrifuge;
- Hemolysebuisjes.

### 9 - WERKWIJZE

Laat reagentia vóór gebruik op kamertemperatuur komen.

#### 9.1 - Voorbereiding van het monster

Verdun het te testen serum tot 1/40:

- 50 µL serum;
- 1,95 ml van reagens **BUF**.

#### 9.2 - Uitvoering van de test op microtiterplaat

- Breng met behulp van een meerkanale micropipet 50 µL reagens **BUF** in 8 putjes van de microtiterplaat.

- Breng met behulp van een micropipet 50 µL van het verdunde serum in het 1<sup>o</sup> putje. Meng met het reagens **BUF** en breng, bij voorkeur met behulp van een microverdunner ("tulp"), 50 µL van het 1<sup>o</sup> putje in het 2<sup>o</sup> putje, van het 2<sup>o</sup> putje in het 3<sup>o</sup>, en ga zo maar door tot het 6<sup>o</sup> putje, waarbij 50 µL van het 6<sup>o</sup> putje wordt weggegooid. Dat resulteert in verdunningen van 1/80 tot 1/2560.

- Breng 50 µL van het verdunde serum over in het 7<sup>o</sup> putje. Meng met het reagens **BUF** en gooi 50 µL weg. Deze verdunning (1/80) vormt de serumcontrole die tot taak heeft de natuurlijke antischaapagglutinenen die bepaalde serums kunnen bevatten, op te sporen.

- Schud de reagentia **R1** en **R2** voorzichtig.
  - Breng 1 druppel reagens **R1** in de eerste 6 putjes.
  - Plaats 1 druppel reagens **R2** in het 7<sup>o</sup> putje (serumcontrole).
  - Breng 1 druppel reagens **R1** in het 8<sup>o</sup> putje (reagentiacontrole) die tot taak heeft de validiteit van de buffer en de gesensibiliseerde rode bloedcellen te controleren.

Opmerking: voer slechts één reagentiacontrole uit per testreeks.

- Homogeniseer de inhoud van de putjes zeer zorgvuldig:
  - ofwel met de hand, door te tikken op de zijkanen van de plaat geïmponeerde microtiterplaat;
  - ofwel door middel van een trilroerder voor microtiterplaten (bijvoorbeeld 1300 omw/min gedurende 10 seconden). Gebruik geen ronde roerder.
- Laat de plaat vervolgens onbeweeglijk en volledig trillingsvrij liggen.
- Lees de reactie 2 uur later.

#### 9.3 - Adsorptie van natuurlijke antischaapagglutinenen in geval van agglutinatie van de serumcontrole

- Schud het reagens **R3** voorzichtig.
- Plaats het in een buisje en meng het:
  - 0,1 ml serum;
  - 0,3 ml reagens **R3**.
- Laat 60 min incuberen bij kamertemperatuur.
- Centrifugeer bij 2000 omw/min gedurende 15 min.
- Verzamel het supernatant; het serum wordt vervolgens verdund tot 1/4.
- Verdun het supernatant tot 1/10 in reagens **BUF** om een geadsorbeerde moederverdunning (1/40) te verkrijgen.
- Herhaal het protocol van "Uitvoering van de test op microtiterplaat" en vervang de moederverdunning door de geadsorbeerde moederverdunning.

### 10 - AFLEZING

#### Negatieve reactie:

Afwezigheid van hemagglutinatie.

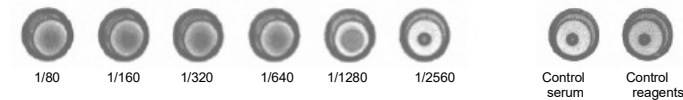
Aanwezigheid van een min of meer brede ring aan de onderkant van het putje.

#### Positieve reactie:

Aanwezigheid van hemagglutinatie.

Aanwezigheid van een rode/bruine sluiër die het putje bedekt; aanwezigheid van een dunne perifere strook.

Voorbeeld: serum positief op 1/1280



### 11 - INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

Titer < 1/160:

niet-aanzienlijke reactie van een progressieve infectie.

Kan wijzen op een oude of behandelde infectie. Herhaal de test 2 tot 3 weken later en gebruik elektrolyse of een immuno-elektroforese.

Titer ≥ 1/160:

aanzienlijke reactie.

Vermoeden van progressieve infectie.

### 12 - INTERNE KWALITEITSCONTROLE

De reagentia **CONTROL+** en **CONTROL-** moeten tijdens de analyse als serums worden behandeld. De titer van het reagens **CONTROL+** moet gelijk zijn aan de titer vermeld op het etiket van de flacon bij ± een verdunning. Het reagens **CONTROL-** moet een afwezigheid van hemagglutinatie vertonen. Als dat niet het geval is, is de test niet geldig.

### 13 - OORZAKEN VAN FOUTEN EN BEPERKINGEN VAN DE TEST

- Slechte opslag van het serum.
- Slechte opslag van reagentia na opening.
- Gebruik alleen de meegeleverde druppelaars in de kit.
- Wissel de druppelaars niet uit tussen de reagentia **R1** en **R2**.
- Bij een positieve reactie in de eerste 6 putjes, dient u verder te gaan met de verdunningen om te zoeken naar de limiethemagglutinatie-titer.
- De serumcontrole moet een negatieve reactie geven (ring). In geval van hemagglutinatie van deze controle moet de test worden herhaald nadat de natuurlijke antischaapagglutinenen door adsorptie uit het serum zijn verwijderd.
- De reagentiacontrole moet een negatieve reactie geven (ring). In geval van hemagglutinatie van deze controle, is het reagens ELI.H.A *Schistosoma* niet bruikbaar.
- Sommige serums, waarvan de concentratie van antilichamen zeer hoog is, kunnen bij de eerste verdunningen een zonefenomeen (met retractie van de sluiër) veroorzaken, dat bij de volgende verdunningen verdwijnt.
- De kwaliteit van de reagentia maakt het mogelijk om de reactie 's avonds uit te voeren en de aflezing de volgende ochtend, op voorwaarde dat de microtiterplaat niet wordt verplaatst en tegen trillingen wordt beschermd.
- In alle gevallen, en voordat de definitieve diagnose wordt gesteld, moet de interpretatie van de test worden gerealiseerd met de integratie van alle klinische, epidemiologische en biologische gegevens en de resultaten van andere tests.

### 14 - PRESTATIES

ELI.H.A *Schistosoma* bestaat uit rode bloedcellen, gesensibiliseerd door een zeer gezuiverd antigeen *Schistosoma mansoni*, die gevoeligheid en specificiteit voor deze reactie van indirecte hemagglutinatie garandeert.

De prestatie-evaluaties van 63 positieve sera (*Schistosoma haematobium* en *mansoni*) en 56 negatieve sera vertoonden een sensitiviteit van 85,7% en een specificiteit van 98,2%.

### 15 - AFVALVERWIJDERING

Afval dient te worden afgevoerd in overeenstemming met de in het land van gebruik voor dit type product geldende hygiënevoorschriften en wetgeving. In geval van accidenteel morsen van reagens **BUF**: het werkoppervlak reinigen met absorberend papier en spoelen met water. Als er serum of een ander reagens gemorst wordt: reinigen met bleekmiddel en absorberend papier.

### 16 - BIBLIOGRAFIE

1. S. HOSHINO, M.-E. CAMARGO, L.-C. DA SILVA - Standardization of a haemagglutination test for schistosomiasis with formalin-treated human erythrocytes - *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol. 19, N°3, 463/470.
2. A. CAPRON, J. BIGUET, P. TRAN VAN KY, Y. MOSCHETTO - Immunological studies in various types of schistosomiasis - *Department of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Lille*, Lille, France.
3. J. TRIBOULEY, J. TRIBOULEY-DURET, M. APPRIOU, D. BERNARD, R. PAUTRIZEL - Application de la réaction d'hémagglutination passive au diagnostic sérologique de la schistosomiase à *Schistosoma mansoni* - *Bull. Organ. Mond. Santé*, 1976, Vol. 54, 695/702.
4. L. AHMED, A. DODIN - Valeur de la réaction d'hémagglutination passive dans la bilharziose - *Bulletin de la société de Pathologie Exotique*, 1977, N°5, 485/489.
5. P. AMBROISE-THOMAS, R. GRILLOT - L'hémagglutination indirecte dans le diagnostic des bilharzioses. Comparaison à l'immuno-fluorescence indirecte dans l'étude de 3624 sérum humains - *Bulletin de la société de Pathologie Exotique*, 1980, N°3, 277/288.
6. P. WATTRE, M. CAPRON, J.-P. DESSAINT, A. CAPRON - Apport de l'immunologie au diagnostic et au traitement des maladies parasitaires - *Immunologie (II) - R.P.*, 1980, 30, 15.
7. M. EL SAYED AZAB, E. ABBAS EL ZAYAT - Evaluation of purified antigens in haemagglutination test (IHA) for determination of cross reactivities in diagnosis of fascioliasis and schistosomiasis - *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 1996, Vol 26, N°3, 677-685.

ELITech MICROBIO

Parc d'Activités du Plateau

19 Allée d'Athènes

83870 SIGNES

FRANCE

☎ : 04 94 88 55 00

Fax : 04 94 32 82 61

